

BESCHIKKING VAN DE COMMISSIE**van 26 mei 2003****tot goedkeuring van een handboek voor de diagnose van Afrikaanse varkenspest***(kennisgeving geschied onder nummer C(2003) 1696)***(Voor de EER relevante tekst)**

(2003/422/EG)

DE COMMISSIE VAN DE EUROPESE GEMEENSCHAPPEN,

Gelet op het Verdrag tot oprichting van de Europese Gemeenschap,

Gelet op Richtlijn 2002/60/EG van de Raad van 27 juni 2002 houdende vaststelling van specifieke bepalingen voor de bestrijding van Afrikaanse varkenspest en houdende wijziging van Richtlijn 92/119/EEG met betrekking tot besmettelijke varkensverlamming (Teschenerziekte) en Afrikaanse varkenspest⁽¹⁾, en met name op artikel 18, lid 3,

Overwegende hetgeen volgt:

- (1) Op grond van Richtlijn 2002/60/EG moeten voor de bevestiging van Afrikaanse varkenspest uniforme diagnostische procedures, bemonsteringsprocedures en criteria voor de evaluatie van de resultaten van laboratoriumtests worden vastgesteld.
- (2) Overeenkomstig die richtlijn moet het communautair referentielaboratorium voor Afrikaanse varkenspest de methoden die in de lidstaten voor de diagnose van deze ziekte worden toegepast, in overleg met de Commissie coördineren, o.m. door periodieke vergelijkende tests te organiseren en in de hele Gemeenschap standaardreagentia te leveren.
- (3) Het virus van Afrikaanse varkenspest wordt ongevaarlijk geacht voor de volksgezondheid.
- (4) Er zijn laboratoriumtests ontwikkeld waarmee Afrikaanse varkenspest snel kan worden bevestigd.
- (5) Dankzij de ervaring die in de voorbije jaren met de bestrijding van Afrikaanse varkenspest is opgedaan, kon worden bepaald welke bemonsteringsprocedures en welke criteria voor de evaluatie van de resultaten van laboratoriumtests het meest geschikt zijn om in uiteenlopende situaties de juiste diagnose van deze ziekte te stellen.
- (6) Het is dan ook dienstig het handboek waarin deze procedures en criteria zijn vastgesteld, goed te keuren.
- (7) De nationale diagnoselaboratoria moeten worden gemachtigd om de erkende laboratoriumtests te wijzigen of andere tests te gebruiken voorzover kan worden aangetoond dat die gewijzigde of andere tests even gevoelig en specifiek zijn.
- (8) De in deze beschikking vastgestelde maatregelen zijn in overeenstemming met het advies van het Permanent Comité voor de voedselketen en de diergezondheid,

HEEFT DE VOLGENDE BESCHIKKING GEGEVEN:

Artikel 1

1. Het handboek voor de diagnose van Afrikaanse varkenspest wordt hierbij goedgekeurd.
2. De lidstaten zien erop toe dat de Afrikaanse varkenspest wordt bevestigd aan de hand van de in het handboek vastgestelde diagnostische procedures, bemonsteringsprocedures en criteria voor de evaluatie van de resultaten van laboratoriumtests en dat hierbij wordt uitgegaan van:
 - a) de opsporing van klinische symptomen en postmortemlaesies;
 - b) de opsporing van virus, antigeen of genoom in monsters van weefsel, organen, bloed of excreties van varkens;
 - c) de aantoning van een specifieke antilichaamrespons in bloedmonsters.
3. In afwijking van lid 2 mogen de in bijlage IV bij Richtlijn 2002/60/EG vermelde nationale diagnoselaboratoria de in het handboek genoemde laboratoriumtests wijzigen of andere tests gebruiken, op voorwaarde dat kan worden aangetoond dat die gewijzigde of andere tests even gevoelig en specifiek zijn.

Als gewijzigde of andere tests worden gebruikt, moeten de gevoeligheid en de specificiteit daarvan worden geëvalueerd in het kader van de periodieke vergelijkende tests die het communautair referentielaboratorium voor Afrikaanse varkenspest organiseert.

Artikel 2

Deze beschikking is van toepassing met ingang van 1 juli 2003.

Artikel 3

Deze beschikking is gericht tot de lidstaten.

Gedaan te Brussel, 26 mei 2003.

Voor de Commissie

David BYRNE

Lid van de Commissie

⁽¹⁾ PB L 192 van 20.7.2002, blz. 27.

BIJLAGE

HANDBOEK VOOR DE DIAGNOSE VAN AFRIKAANSE VARKENSPEST

Hoofdstuk I

Inleiding, doelstellingen en definities

1. Om te garanderen dat bij de diagnose van Afrikaanse varkenspest (hierna „AVP” genoemd) uniforme procedures worden toegepast,
 - a) biedt dit handboek richtsnoeren en minimumvoorschriften voor een juiste diagnose van AVP, die betrekking hebben op diagnostische procedures, bemonsteringsprocedures en criteria voor de evaluatie van de resultaten van klinische en postmortemonderzoeken en laboratoriumtests ⁽¹⁾;
 - b) biedt dit handboek voorschriften inzake bioveiligheid en kwaliteitsnormen waaraan de diagnoselaboratoria voor AVP ten minste moeten voldoen, en die ook bij het vervoer van monsters in acht moeten worden genomen;
 - c) wordt in dit handboek aangegeven welke laboratoriumtests voor de diagnose van AVP en welke laboratoriumtechnieken voor de genetische typering van isolaten van het AVP-virus moeten worden gebruikt.
2. Dit handboek is in de eerste plaats bedoeld voor de autoriteiten die verantwoordelijk zijn voor de bestrijding van AVP. Daarom ligt de nadruk op de principes en de toepassingen van laboratoriumtests en op de evaluatie van de resultaten daarvan, en niet zozeer op de gedetailleerde beschrijving van de laboratoriumtechnieken.
3. In het kader van dit handboek gelden naast de definities van artikel 2 van Richtlijn 2002/60/EG de volgende definities:
 - a) „verdacht bedrijf”: elk varkensbedrijf met één of meer varkens waarvan vermoed wordt dat ze zijn besmet met het AVP-virus, of een contactbedrijf zoals gedefinieerd in artikel 2, onder k), van Richtlijn 2002/60/EG;
 - b) „epizoötiologische subeenheid” of „subeenheid”: het gebouw, de plaats of het nabijgelegen stuk land waar groepen varkens binnen een bedrijf zo worden gehouden dat zij regelmatig direct of indirect met elkaar in contact komen, maar wel gescheiden blijven van andere varkens binnen hetzelfde bedrijf;
 - c) „contactvarkens”: varkens die in de afgelopen 21 dagen op een bedrijf direct contact hebben gehad met één of meer van besmetting met het AVP-virus verdachte varkens.

Hoofdstuk II

Beschrijving van AVP, met de nadruk op de differentiële diagnose

A. INLEIDING

1. AVP wordt veroorzaakt door een omhuld DNA-virus dat behoort tot het genus *Asfivirus* van de familie van de *Asfarviridae*. De AVP-virusstammen verschillen van elkaar in virulentie, zonder dat er evenwel verschillende serotypes kunnen worden geïdentificeerd.
2. Het AVP-virus is zeer stabiel in de excreta van besmette varkens, in varkensskarkassen en vers varkensvlees, en in bepaalde varkensvleesproducten. Om het in het milieu te inactiveren zijn adequate ontsmettingsmiddelen nodig.
3. De belangrijkste natuurlijke besmettingsroute voor varkens in Europa is via de mond en neus door direct of indirect contact met besmette varkens of door het eten van voeder dat verontreinigd is met het virus. In gebieden waar evenwel vectoren ⁽²⁾ voorkomen, speelt de transmissie via deze vectoren een zeer belangrijke rol bij viruspersistentie en -verspreiding. AVP kan ook worden verspreid via indirect contact met verontreinigd materiaal of via bijtende insecten die het AVP-virus mechanisch vervoeren. De ziekte kan ook worden overgedragen via sperma van besmette beren.
4. Voor afzonderlijke dieren bedraagt de incubatieperiode ongeveer vijf tot 15 dagen, maar in bedrijfsomstandigheden is het mogelijk dat de klinische symptomen zich pas verschillende weken na de virusinsleep manifesteren, of zelfs nog later als het om een milde virusstam gaat.

⁽¹⁾ Bij het bepalen van het aantal monsters dat voor de laboratoriumtests moet worden genomen, moet ook rekening worden gehouden met de gevoeligheid van de gebruikte tests. Als de gevoeligheid van de test niet erg hoog is, moet het aantal dieren waarbij monsters worden genomen, groter zijn dan in dit handboek wordt aangegeven.

⁽²⁾ Zoals omschreven in artikel 2, onder r), van Richtlijn 2002/60/EG.

5. Er bestaan acute, subacute en chronische vormen van AVP, die vooral op basis van de virulentie van het virus worden onderscheiden.
6. Bij varkens die na een infectie klinisch genezen zijn, persisteert de viremie gedurende 40 tot 60 dagen en deze varkens worden virusdragers. Bij virusdragende varkens kon het AVP-virus nog tot zes maanden na de infectie worden geïsoleerd.

B. ACUTE VORM

1. Het eerste klinische symptoom van de ziekte is gewoonlijk hoge koorts (meer dan 40 °C). Die gaat gepaard met depressie, verminderde eetlust, snelle en moeilijke ademhaling en afscheiding van al dan niet etterige substanties via neus en ogen. De varkens bewegen ongecoördineerd en kruipen dicht bijeen. Zeugen kunnen in alle stadia van de dracht aborteren. Sommige varkens kunnen last hebben van braakverschijnselen en constipatie, terwijl andere een bloederige diarree kunnen ontwikkelen. De dieren krijgen door congestie of hemorragie veroorzaakte subcutane vlekken, vooral aan de extremiteiten en de oren. Ze kunnen in coma geraken voordat ze sterven. Eén tot zeven dagen na de ontwikkeling van de klinische symptomen treedt de dood in. Het ziektecijfer en het sterftecijfer in een bedrijf kunnen oplopen tot 100 %.

Bij postmortemonderzoek wordt een typisch hemorragisch syndroom geconstateerd, met een veralgemeende congestie van het karkas, bloederige vloeistof in de borst- en de buikholte, een uitgezette, donkere milt, hemorragische lymfklieren die op bloedklonters lijken (vooral zichtbaar bij de renale en de hepatogastrische lymfklieren), petechiale bloedingen in de nieren (de corticale en medullaire piramiden en het nierbekken), de abdominale serosa, de mucosa van maag en ingewanden en het hart (epicardium en endocardium), alsmede hydrothorax en petechiale bloedingen van de pleura.

2. Doorgaans leidt de acute vorm van klassieke varkenspest tot een klinisch en pathologisch ziektebeeld dat grote gelijkenissen vertoont met dat van Afrikaanse varkenspest. Bloedingen van de huid en oren zijn, indien aanwezig, eenvoudig op te sporen en doen veronderstellen dat er sprake is van een acuut geval van klassieke of Afrikaanse varkenspest. Er zijn maar weinig andere ziekten die soortgelijke laesies veroorzaken.

Voorts moet aan acute Afrikaanse varkenspest worden gedacht in geval van verdenking van erysipelas, abortus blauw, coumarinevergiftiging, purpura, wegwijz ziekte (post-weaning multisystemic wasting syndrome), varkensdermatitis en nefrotisch syndroom, salmonella- of pasteurilla-infecties of infecties aan de darmen of luchtwegen in combinatie met koorts waarbij een antibioticumkuur niet aanslaat.

C. SUBACUTE VORMEN

De subacute vormen van de ziekte komen vaker voor in endemische gebieden. Een subacute infectie wordt gekenmerkt door wisselende koorts, depressie en longontsteking. Hartinsufficiëntie kan tot de dood leiden. De laesies bij de subacute vormen lijken op die bij de acute vormen, maar zijn minder uitgesproken. Kenmerkende laesies zijn omvangrijke bloedingen in lymfklieren, nieren en milt, longcongestie en -oedeem, en in sommige gevallen interstitiële pneumonie.

D. CHRONISCHE VORMEN

De ziekte komt zelden in chronische vorm voor. Bij de chronische vormen kunnen secundaire bacteriële infecties worden geconstateerd. Aangezien de klinische symptomen van chronische AVP vrij specifiek zijn, moet bij de differentiële diagnose rekening worden gehouden met vele andere ziekten. Niet elk dier heeft per definitie een verhoogde lichaamstemperatuur, maar in elk besmet bedrijf zijn er wel een paar varkens met koorts.

Tot de klinische symptomen van chronische AVP behoren ademhalingsproblemen, abortus, artritis, chronische huidzweren of -necrose die niet lijken op het typische ziektebeeld van infecties met het AVP-virus. De laesies kunnen minimaal zijn of zelfs volledig ontbreken. Bij histopathologisch onderzoek worden vergroting van de lymfklieren en de milt, pleuritis, fibrineuze pericarditis en longinfiltraat aangetroffen. Voorts zijn kaasachtige focale necrose en mineralisering van de longen beschreven.

Hoofdstuk III

Richtsnoeren met betrekking tot de belangrijkste criteria op grond waarvan wordt bepaald of een bedrijf ervan verdacht wordt met AVP te zijn besmet

1. Het besluit om een bedrijf te bestempelen als verdacht bedrijf, wordt genomen op basis van de volgende bevindingen, criteria en redenen:
 - a) klinische en pathologische bevindingen bij varkens. De belangrijkste klinische en pathologische bevindingen die in aanmerking moeten worden genomen, zijn:
 - koorts in combinatie met ziekte en sterfte bij varkens van alle leeftijden;
 - koorts in combinatie met bloedingen; petechie en ecchymose, met name in de lymfklieren, de nieren, de milt (die uitgezet en donker is, vooral in de acute vormen) en de urineblaas, en zweren op de galblaas;

- b) epizoötiologische bevindingen. De belangrijkste epizoötiologische bevindingen die in aanmerking moeten worden genomen, zijn:
- de varkens zijn direct of indirect in contact geweest met een varkensbedrijf waar het AVP-virus is geconstateerd en bevestigd;
 - een bedrijf heeft varkens geleverd waarvan later is gebleken dat ze besmet waren met het AVP-virus;
 - zeugen zijn kunstmatig geïnsemineerd met sperma dat afkomstig is van een verdachte bron;
 - er is indirect of direct contact geweest met wilde varkens van een populatie waarbij AVP voorkomt;
 - varkens worden in de open lucht gehouden in een gebied waar wilde varkens met het AVP-virus zijn besmet;
 - varkens zijn gevoed met spoeling en het vermoeden bestaat dat deze spoeling geen behandeling heeft ondergaan om eventueel aanwezig AVP-virus te inactiveren;
 - het vermoeden bestaat dat er blootstelling is geweest, bijvoorbeeld via personen die het bedrijf hebben betreden, transporten, enz. die vooraf op bedrijven waren die met het AVP-virus zijn besmet of daarvan worden verdacht;
 - in de streek waar het bedrijf gesitueerd is, komen vectoren voor.
2. In elk geval moet een bedrijf als verdacht worden beschouwd als op basis van klinische of pathologische bevindingen wordt vermoed dat daar klassieke varkenspest aanwezig is, maar het niet mogelijk is om met klinische en epizoötiologische onderzoeken en met laboratoriumtests deze ziekte te bevestigen of andere ziektebronnen of ziekteverwekkers op het betrokken bedrijf te identificeren.

Hoofdstuk IV

Controle- en bemonsteringsprocedures

A. RICHTSNOEREN EN PROCEDURES VOOR KLINISCH ONDERZOEK EN BEMONSTERING VAN VARKENS OP VERDACHTE BEDRIJVEN

1. De lidstaten zien erop toe dat in de verdachte bedrijven overeenkomstig de in de punten 2 tot en met 6 vermelde richtsnoeren en procedures de juiste klinische onderzoeken, bemonsteringen en laboratoriumtests worden uitgevoerd om AVP te kunnen bevestigen of uitsluiten.

Ongeacht of de in artikel 4, lid 2, van Richtlijn 2002/60/EG bedoelde maatregelen op de betrokken bedrijven al dan niet worden toegepast, zijn deze richtsnoeren en procedures ook van toepassing wanneer het gaat om een ziekte waarbij in de differentiële diagnose met AVP rekening moet worden gehouden. Dit geldt ook voor gevallen waarbij de klinische symptomen en het epizoötiologische patroon van de ziekte die bij varkens worden waargenomen, doen vermoeden dat de kans op besmetting met AVP zeer gering is.

In alle andere gevallen waarbij één of meer varkens ervan worden verdacht met het AVP-virus te zijn besmet, moeten de in artikel 4, lid 2, van Richtlijn 2002/60/EG bedoelde maatregelen op het betrokken bedrijf worden toegepast.

Als AVP-besmetting wordt vermoed bij varkens in een slachthuis of een vervoermiddel, zijn de in de punten 2 tot en met 6 vastgestelde richtsnoeren en procedures van overeenkomstige toepassing.

2. Als een officiële dierenarts een verdacht bedrijf bezoekt om AVP te bevestigen of uit te sluiten:
- moet hij de gegevens over de productie en de gezondheid op het bedrijf controleren, indien die beschikbaar zijn, en moet hij elke subeenheid van het bedrijf inspecteren om de varkens te selecteren die klinisch moeten worden onderzocht.
- In het kader van het klinisch onderzoek moet o.a. de lichaamstemperatuur worden gemeten en moeten vooral de volgende varkens of groepen varkens worden onderzocht:
- varkens die ziek zijn of aan anorexie lijden;
 - varkens die recentelijk zijn aangevoerd uit bedrijven waar een uitbraak van de ziekte is bevestigd, of uit een andere verdachte plaats van herkomst;
 - varkens die in subeenheden worden gehouden die recentelijk zijn bezocht door externe bezoekers die kort daarvoor in contact waren met varkens waarbij besmetting met AVP wordt vermoed of is bevestigd, of van wie is geweten dat zij andere bijzonder risicovolle contacten met een potentiële bron van het AVP-virus hebben gehad;
 - varkens die reeds zijn bemonsterd en serologisch getest op AVP, voorzover de testresultaten niet van die aard zijn dat AVP kan worden uitgesloten, alsmede contactvarkens;
 - varkens die pas van een ziekte zijn hersteld.

Als bij de inspectie van het verdachte bedrijf geen varkens of groepen varkens zijn aangetroffen zoals bedoeld in de bovenstaande alinea, moet de bevoegde autoriteit, onverminderd de andere maatregelen die overeenkomstig Richtlijn 2002/60/EG op het betrokken bedrijf kunnen worden toegepast, en met inachtneming van de epizoötiologische situatie:

- op het betrokken bedrijf verder onderzoek verrichten overeenkomstig punt 3, of
 - ervoor zorgen dat bij de varkens op het betrokken bedrijf bloedmonsters worden genomen voor laboratoriumtests. In dat geval moeten de in punt 5 en in deel F, punt 2, vastgestelde bemonsteringsprocedures als richtsnoer worden gebruikt, of
 - de in artikel 4, lid 2, van Richtlijn 2002/60/EG vastgestelde maatregelen invoeren of handhaven, in afwachting van verder onderzoek op het betrokken bedrijf, of
 - het vermoeden van AVP-besmetting weerleggen.
3. Als wordt verwezen naar dit punt, moet het klinisch onderzoek in het betrokken bedrijf worden uitgevoerd bij varkens die willekeurig worden geselecteerd in de subeenheden waarbij een risico van insleep van het AVP-virus is vastgesteld of wordt vermoed.

Het minimumaantal te onderzoeken varkens moet voldoende zijn om in deze subeenheden koorts bij een prevalentie van 10 % met een betrouwbaarheid van 95 % op te sporen.

4. Als op een verdacht bedrijf dode of stervende varkens worden aangetroffen, moet een postmortemonderzoek worden uitgevoerd, bij voorkeur bij minimaal vijf van deze varkens en in het bijzonder bij varkens die:
- vóór hun dood duidelijke symptomen van de ziekte vertoonden;
 - hoge koorts hadden;
 - pas gestorven zijn.

Als bij deze onderzoeken geen laesies worden aangetroffen die op AVP wijzen, maar verder onderzoek noodzakelijk wordt geacht gezien de epizoötiologische situatie,

- moeten in de subeenheid waar de dode of stervende varkens werden gehouden, een klinisch onderzoek zoals bedoeld in punt 3, en een bloedbemonstering zoals bedoeld in punt 5, worden uitgevoerd en
- mag bij drie tot vier contactvarkens een postmortemonderzoek worden uitgevoerd, vooral als deze varkens klinische symptomen vertonen.

Ongeacht de aan- of afwezigheid van laesies die op AVP wijzen, moeten de organen of weefsels van varkens die aan een postmortemonderzoek zijn onderworpen, overeenkomstig hoofdstuk V, deel B, punt 1, worden bemonsterd ten behoeve van virologisch onderzoek. Deze monsters worden bij voorkeur genomen bij pas gestorven varkens.

Wanneer een postmortemonderzoek wordt uitgevoerd, moet de bevoegde autoriteit erop toezien dat:

- de nodige hygiëne- en voorzorgsmaatregelen worden genomen om verspreiding van de ziekte te voorkomen, en
 - stervende varkens op een humane wijze worden gedood overeenkomstig Richtlijn 93/119/EEG van de Raad van 22 december 1993 inzake de bescherming van dieren bij het slachten of doden⁽¹⁾, gewijzigd bij Verordening (EG) nr. 806/2003⁽²⁾.
5. Als op een verdacht bedrijf verdere klinische symptomen of laesies worden geconstateerd die weliswaar op AVP kunnen wijzen, maar die volgens de bevoegde autoriteit onvoldoende bewijskracht hebben om besmetting met AVP te bevestigen zodat alsnog laboratoriumtests vereist zijn, moeten bij de verdachte varkens en bij andere varkens in elke subeenheid waarin verdachte varkens worden gehouden, bloedmonsters worden genomen overeenkomstig de volgende procedures:
- a) Het minimumaantal monsters dat voor serologisch onderzoek moet worden genomen, moet voldoende zijn om in de betrokken subeenheid een seroprevalentie van 10 % met een betrouwbaarheid van 95 % op te sporen.
 - b) Het aantal monsters dat voor virologisch onderzoek wordt genomen, moet in overeenstemming zijn met de instructies van de bevoegde autoriteit, waarin rekening wordt gehouden met de verschillende tests die kunnen worden uitgevoerd, met de gevoeligheid van de gebruikte laboratoriumtests en met de epizoötiologische situatie.

⁽¹⁾ PB L 340 van 31.12.1993, blz. 21.

⁽²⁾ PB L 122 van 16.5.2003, blz. 1.

6. Als bij het onderzoek op een verdacht bedrijf geen klinische symptomen of laesies zijn aangetroffen die op AVP kunnen wijzen, maar de bevoegde autoriteit verder laboratoriumonderzoek noodzakelijk acht om besmetting met AVP te kunnen uitsluiten, moeten de in punt 5 vastgestelde bemonsteringsprocedures als richtsnoer worden gebruikt.

B. BEMONSTERINGSPROCEDURES IN BEDRIJVEN WAAR VARKENS WORDEN GEDOOD NADAT DE ZIEKTE IS BEVESTIGD

1. Om na te gaan hoe het AVP-virus in een besmet bedrijf is binnengebracht en hoelang het virus al op het bedrijf aanwezig was, moeten, wanneer varkens overeenkomstig artikel 5, lid 1, onder a), van Richtlijn 2002/60/EG na de bevestiging van een uitbraak op een bedrijf worden gedood, bij die varkens op aselechte wijze bloedmonsters voor serologisch onderzoek worden genomen.
2. Het minimumaantal te bemonsteren varkens moet voldoende zijn om in elke subeenheid van het bedrijf een seroprevalentie van 10 % met een betrouwbaarheid van 95 % op te sporen ⁽¹⁾.

Het nemen van monsters voor virologisch onderzoek moet ook plaatsvinden volgens de instructies van de bevoegde autoriteit, waarin rekening wordt gehouden met de verschillende tests die kunnen worden uitgevoerd, met de gevoeligheid van de gebruikte laboratoriumtests en met de epizoötiologische situatie.

In gebieden waarvan reeds is aangetoond dat er met het AVP-virus besmette vectoren voorkomen, moeten overeenkomstig de instructies van de bevoegde autoriteit en bijlage III bij Richtlijn 2002/60/EG zachte teken worden verzameld die geschikt zijn voor virologisch onderzoek.

3. In het geval van secundaire uitbraken kan de bevoegde autoriteit evenwel besluiten om van de punten 1 en 2 af te wijken en kan zij andere bemonsteringsprocedures vaststellen. Hierbij moet rekening worden gehouden met de epizoötiologische informatie die reeds beschikbaar is met betrekking tot de herkomst van het virus, de wijze waarop het virus op het bedrijf is binnengebracht, en de potentiële verspreiding van de ziekte vanuit het bedrijf.

C. BEMONSTERINGSPROCEDURES INGEVAL VARKENS OP VERDACHTE BEDRIJVEN PREVENTIEF WORDEN GEDOOD

1. Om besmetting met AVP te bevestigen of uit te sluiten en meer epizoötiologische informatie te verkrijgen, moeten, wanneer varkens op een verdacht bedrijf preventief worden gedood overeenkomstig artikel 4, lid 3, onder a), of artikel 7, lid 2, van Richtlijn 2002/60/EG, bloedmonsters voor serologisch onderzoek en bloedmonsters voor virologisch onderzoek worden genomen overeenkomstig de in punt 2 vastgestelde procedure.

2. De bemonstering moet vooral worden uitgevoerd bij:

- varkens die symptomen of postmortellaesies vertonen die mogelijk wijzen op AVP, en de contactvarkens;
- andere varkens die mogelijk risicovol contact hebben gehad met besmette of verdachte varkens of waarvan wordt vermoed dat ze met het AVP-virus zijn verontreinigd. Deze varkens moeten worden bemonsterd volgens de instructies van de bevoegde autoriteit, waarin rekening wordt gehouden met de epizoötiologische situatie.

Bovendien moeten de varkens uit elk van de subeenheden van het bedrijf aselechte worden bemonsterd ⁽²⁾. In dat geval moet het minimumaantal voor serologisch onderzoek te nemen monsters voldoende zijn om in de betrokken subeenheid een seroprevalentie van 10 % met een betrouwbaarheid van 95 % op te sporen.

Het soort monsters dat voor virologisch onderzoek moet worden genomen en de te gebruiken test moeten in overeenstemming zijn met de instructies van de bevoegde autoriteit, waarin rekening wordt gehouden met de verschillende tests die kunnen worden uitgevoerd, met de gevoeligheid van deze tests en met de epizoötiologische situatie.

⁽¹⁾ Als echter gebruik is gemaakt van de in artikel 6, lid 1, van Richtlijn 2002/60/EG vastgestelde afwijking, moet de monsterneming betrekking hebben op de subeenheden van het bedrijf waar varkens zijn gedood, onverminderd verder onderzoek en bemonstering van de overige varkens op het bedrijf overeenkomstig de instructies van de bevoegde autoriteit.

⁽²⁾ Als de bevoegde autoriteit overeenkomstig artikel 4, lid 3, onder a), van Richtlijn 2002/60/EG het preventieve doden echter heeft beperkt tot dat deel van het bedrijf waar varkens worden gehouden die ervan worden verdacht met het AVP-virus te zijn besmet of verontreinigd, moet de bemonstering betrekking hebben op de subeenheden van het bedrijf waar deze maatregel is toegepast, onverminderd verder onderzoek en bemonstering van de overige varkens op het bedrijf overeenkomstig de instructies van de bevoegde autoriteit.

D. CONTROLE- EN BEMONSTERINGSPROCEDURES DIE VAN TOEPASSING ZIJN VOORDAT TOESTEMMING WORDT VERLEEND OM VARKENS VAN IN BESCHERMINGS- OF TOEZICHTSGEBIEDEN GELEGEN BEDRIJVEN TE VERVOEREN EN INGEVAL DEZE VARKENS WORDEN GESLACHT OF GEDOOD (ARTIKELEN 10 EN 11 VAN RICHTLIJN 2002/60/EG)

1. Onverminderd artikel 11, lid 1, onder f), tweede alinea, van Richtlijn 2002/60/EG kan het vervoer, overeenkomstig artikel 10, lid 3, van die richtlijn, van varkens, afkomstig van in een beschermings- of een toezichtsgebied gelegen bedrijf, alleen worden toegestaan als het door een officiële dierenarts te verrichten klinisch onderzoek:

- wordt uitgevoerd in de laatste 24 uur voordat de varkens worden vervoerd;
- voldoet aan het bepaalde in deel A, punt 2.

2. Als varkens naar een ander bedrijf moeten worden vervoerd, moet naast het op grond van punt 1 te verrichten onderzoek in elke subeenheid van het bedrijf waar de te vervoeren varkens worden gehouden, een klinisch onderzoek bij de varkens worden uitgevoerd, in het kader waarvan bij een deel van de varkens ook de temperatuur wordt gemeten.

Het minimumaantal te onderzoeken varkens moet voldoende zijn om in deze subeenheden koorts bij een prevalentie van 10 % met een betrouwbaarheid van 95 % op te sporen.

3. Als varkens moeten worden vervoerd naar een slachthuis, een verwerkingsbedrijf of een andere plaats waar ze worden geslacht of geslacht, moet naast het op grond van punt 1 te verrichten onderzoek in elke subeenheid waar de te vervoeren varkens worden gehouden, een klinisch onderzoek bij de varkens worden uitgevoerd. Wanneer de varkens ouder zijn dan drie tot vier maanden, moet bij een deel van de varkens ook de temperatuur worden gemeten.

Het minimumaantal te onderzoeken varkens moet voldoende zijn om in deze subeenheden koorts bij een prevalentie van 20 % met een betrouwbaarheid van 95 % op te sporen.

4. Als de in punt 3 bedoelde varkens worden geslacht of gedood, moeten bij varkens afkomstig uit elk van de subeenheden waarvan varkens zijn afgevoerd, bloedmonsters voor serologisch onderzoek of monsters van bloed of organen zoals tonsillen, milt of lymfklieren voor virologisch onderzoek worden genomen.

Het minimumaantal te nemen monsters moet voldoende zijn om in elke subeenheid een seroprevalentie of een virusprevalentie van 10 % met een betrouwbaarheid van 95 % op te sporen.

Het soort monsters dat moet worden genomen, en de te gebruiken test moeten in overeenstemming zijn met de instructies van de bevoegde autoriteit, waarin rekening wordt gehouden met de verschillende tests die kunnen worden uitgevoerd, met de gevoeligheid van de gebruikte laboratoriumtests en met de epizoötiologische situatie.

5. Als echter bij het slachten of doden klinische symptomen of postmortemlaesies worden waargenomen die op AVP kunnen wijzen, zijn in afwijking van punt 4 de in deel C vastgestelde bemonsteringsvoorschriften van toepassing.
6. De afwijking waarin artikel 10, lid 5, en artikel 11, lid 4, van Richtlijn 2002/60/EG voorzien, kan worden toegestaan als de bevoegde autoriteiten erop toezien dat ook voor de in de punten 2, 3 en 4 bedoelde te controleren en te bemonsteren groepen varkens een intensief bemonsterings- en testprogramma wordt toegepast. In het kader van dit programma moet het minimumaantal bloedmonsters voldoende zijn om in de betrokken groep varkens een seroprevalentie van 5 % met een betrouwbaarheid van 95 % op te sporen.

E. CONTROLE- EN BEMONSTERINGSPROCEDURES IN EEN BEDRIJF MET BETREKKING TOT HERBEVOLKING

1. Wanneer in een bedrijf weer varkens worden binnengebracht overeenkomstig artikel 13, lid 3, van Richtlijn 2002/60/EG, moeten de volgende bemonsteringsprocedures worden toegepast:

- Ten vroegste 45 dagen nadat weer varkens zijn binnengebracht, moeten bloedmonsters worden genomen.
- Als verklikkervarkens worden binnengebracht, moeten bij een voldoende aantal varkens op aselechte wijze bloedmonsters voor serologisch onderzoek worden genomen om in elke subeenheid van het bedrijf een seroprevalentie van 10 % met een betrouwbaarheid van 95 % op te sporen.
- Bij een totale herbevolking moeten bij een voldoende aantal varkens op aselechte wijze bloedmonsters voor serologisch onderzoek worden genomen om in elke subeenheid van het bedrijf een seroprevalentie van 20 % met een betrouwbaarheid van 95 % op te sporen.

2. Wanneer in een bedrijf weer varkens worden binnengebracht overeenkomstig artikel 13, lid 4, van Richtlijn 2002/60/EG, moeten de volgende bemonsteringsprocedures worden toegepast:
 - Ten vroegste 45 dagen nadat weer varkens zijn binnengebracht, moeten bloedmonsters worden genomen.
 - Als verklikkervarkens worden binnengebracht, moeten bij een voldoende aantal varkens op aselechte wijze bloedmonsters voor serologisch onderzoek worden genomen om in elke subeenheid van het bedrijf een seroprevalentie van 5 % met een betrouwbaarheid van 95 % op te sporen.
 - Bij een totale herbevolking moeten bij een voldoende aantal varkens op aselechte wijze bloedmonsters voor serologisch onderzoek worden genomen om in elke subeenheid van het bedrijf een seroprevalentie van 10 % met een betrouwbaarheid van 95 % op te sporen.

Vervolgens moet de in het derde streepje vastgestelde procedure op zijn vroegst 60 dagen na de totale herbevolking worden herhaald.

3. Telkens nadat weer varkens zijn binnengebracht, moet de bevoegde autoriteit erop toezien dat, wanneer varkens op het bedrijf om een onbekende reden ziek worden of doodgaan, de betrokken varkens onmiddellijk op AVP worden getest.

Deze bepalingen zijn van toepassing totdat de beperkingen op de verplaatsingen van varkens zoals bedoeld in artikel 13, lid 3, onder a) en b), en artikel 13, lid 4, van Richtlijn 2002/60/EG, voor het betrokken bedrijf worden opgeheven.

F. BEMONSTERINGSPROCEDURES IN BEDRIJVEN IN HET BESCHERMINGSGBIED VOORDAT DE BEPERKINGEN WORDEN OPGEHEVEN

1. Om ervoor te zorgen dat de in artikel 10 van Richtlijn 2002/60/EG bedoelde maatregelen in een beschermingsgebied kunnen worden opgeheven,
 - moet in alle bedrijven in het gebied een klinisch onderzoek worden uitgevoerd overeenkomstig de in deel A, punten 2 en 3, vastgestelde procedures;
 - moeten in alle bedrijven in het gebied bloedmonsters voor serologisch onderzoek worden genomen overeenkomstig onderstaand punt 2.
2. Het minimumaantal te nemen bloedmonsters moet voldoende zijn om in elke subeenheid van het bedrijf een seroprevalentie van 10 % met een betrouwbaarheid van 95 % op te sporen.

De afwijking waarin artikel 10, lid 5, en artikel 11, lid 4, van Richtlijn 2002/60/EG voorzien, kan alleen worden toegestaan als de bevoegde autoriteit erop toeziet dat er voldoende bloedmonsters worden genomen om in elke subeenheid van het bedrijf een seroprevalentie van 5 % met een betrouwbaarheid van 95 % op te sporen.

G. BEMONSTERINGSPROCEDURES IN BEDRIJVEN IN HET TOEZICHTSGEBIED VOORDAT DE BEPERKINGEN WORDEN OPGEHEVEN

1. Om ervoor te zorgen dat de in artikel 11 van Richtlijn 2002/60/EG bedoelde maatregelen in een toezichtsgebied kunnen worden opgeheven, moet in alle bedrijven in het gebied een klinisch onderzoek worden uitgevoerd overeenkomstig de in deel A, punt 2, vastgestelde procedures.

Daarnaast moeten er bloedmonsters voor serologisch onderzoek worden genomen bij varkens:

- op elk ander bedrijf waar bemonstering noodzakelijk wordt geacht door de bevoegde autoriteit;
- in alle spermacentra.

2. Wanneer in bedrijven in het toezichtsgebied bloedmonsters voor serologisch onderzoek worden genomen, moet het aantal in deze bedrijven te nemen bloedmonsters in overeenstemming zijn met deel F, punt 2, eerste zin.

De afwijking waarin artikel 10, lid 5, en artikel 11, lid 4, van Richtlijn 2002/60/EG voorzien, kan alleen worden toegestaan als de bevoegde autoriteit erop toeziet dat in elk bedrijf in het gebied bloedmonsters worden genomen voor serologisch onderzoek. Het minimumaantal te nemen bloedmonsters moet voldoende zijn om in elke subeenheid van het bedrijf een seroprevalentie van 5 % met een betrouwbaarheid van 95 % op te sporen.

H. SEROLOGISCHE BEWAKING EN BEMONSTERINGSPROCEDURES IN GEBIEDEN WAAR AVP VERMOEDELIJK VOORKOMT OF REEDS IS BEVESTIGD BIJ WILDE VARKENS

1. In het geval van serologische bewaking van wilde varkens in gebieden waar AVP is bevestigd of vermoedelijk voorkomt, moeten de omvang en het geografische gebied van de te bemonsteren doelpopulatie vooraf worden bepaald om te kunnen vaststellen hoeveel monsters er moeten worden genomen. Het aantal te nemen monsters moet worden vastgesteld op grond van het geraamde aantal levende dieren en niet op grond van het aantal afgeschoten dieren.
2. Als geen gegevens over populatiedichtheid en -omvang beschikbaar zijn, moet eerst het geografische gebied worden bepaald waarbinnen monsters moeten worden genomen. Hierbij moet rekening worden gehouden met de continue aanwezigheid van wilde varkens en de aanwezigheid van natuurlijke of kunstmatige obstakels die voldoende groot zijn om te voorkomen dat de dieren zich voortdurend in groten getale verplaatsen. In alle andere gevallen of wanneer het gaat om grote gebieden, wordt aanbevolen om een bemonsteringsgebied van ongeveer 200 km² af te bakenen; bij een dergelijke grootte ligt het aantal wilde varkens gewoonlijk tussen 400 en 1 000.
3. Onverminderd artikel 15, lid 2, onder c), van Richtlijn 2002/60/EG moet het minimumaantal varkens dat in het vooraf bepaalde gebied moet worden bemonsterd, voldoende zijn om een seroprevalentie van 5 % met een betrouwbaarheid van 95 % op te sporen. Daarom moeten in elk afgebakend gebied ten minste 56 dieren worden bemonsterd.
4. Het verzamelen van monsters voor virologisch onderzoek bij wilde varkens die zijn afgeschoten of dood worden aangetroffen, moet worden uitgevoerd overeenkomstig hoofdstuk V, deel B, punt 1.

Als virologische bewaking op afgeschoten wilde varkens noodzakelijk wordt geacht, moet dit vooral geschieden bij dieren van minder dan één jaar oud.

5. Bij alle monsters die naar het laboratorium worden gestuurd, moet een vragenlijst worden gevoegd zoals bedoeld in artikel 16, lid 3, onder h), van Richtlijn 2002/60/EG.

Hoofdstuk V

Algemene procedures en criteria voor het verzamelen en het vervoeren van monsters

A. ALGEMENE PROCEDURES EN CRITERIA

1. Voordat op een verdacht bedrijf monsters worden genomen, moet een plattegrond worden gemaakt van het bedrijf, waarop de epizoötiologische subeenheden van het bedrijf worden aangegeven.
2. Telkens wanneer men vermoedt dat varkens later wellicht opnieuw moeten worden bemonsterd, moeten alle bemonsterde varkens worden voorzien van een unieke identificatiecode waardoor zij bij de tweede monsterneming gemakkelijk herkenbaar zijn.
3. Bij alle monsters die naar het laboratorium worden gestuurd, moeten de nodige formulieren worden gevoegd, overeenkomstig de voorschriften van de bevoegde autoriteit. De formulieren bevatten gegevens over de geschiedenis van de bemonsterde varkens en over de klinische symptomen of postmortemlaesies die zijn waargenomen.

Wanneer de varkens op een bedrijf worden gehouden, moeten nauwkeurige gegevens worden vermeld over de leeftijd, de categorie en het bedrijf van herkomst van de bemonsterde varkens. Aanbevolen wordt dat van elk varken waarbij een monster is genomen, de plaats wordt geregistreerd waar het in het bedrijf wordt gehouden, samen met de unieke identificatiecode van het dier.

B. BEMONSTERING VOOR VIROLOGISCH ONDERZOEK

1. Voor de opsporing van het AVP-virus, -antigeen of -genoom bij dode of geëuthanaseerde varkens, is weefsel van de tonsillen, de lymfklieren (hepatogastrische, renale, submandibulaire en retrofaryngeale lymfklieren), de milt, de nieren en de longen het meest geschikt als monster⁽¹⁾. In het geval van kadavers die autolyse hebben ondergaan, wordt bij voorkeur een compleet lang bot of het sternum genomen.
2. Bij varkens die koorts of andere ziektesymptomen vertonen, moeten monsters van niet-gecoaguleerd en/of van gestold bloed worden genomen overeenkomstig de instructies van de bevoegde autoriteit.

⁽¹⁾ Er wordt aanbevolen ook ileummonsters te nemen, aangezien die nuttig kunnen zijn voor de diagnose van klassieke varkenspest.

C. VERVOER VAN DE MONSTERS

1. Aanbevolen wordt om alle monsters:
 - correct te identificeren;
 - in lekvrije recipiënten te vervoeren en op te slaan;
 - koel te bewaren op koelkasttemperatuur; als evenwel wordt verwacht dat de monsters pas na 48 uur in het laboratorium zullen aankomen, moet contact met het laboratorium worden opgenomen om instructies te krijgen over de best geschikte temperatuur tijdens het vervoer;
 - zo snel mogelijk bij het laboratorium af te leveren;
 - te bewaren in een verpakking die ijskompresen of droog ijs bevat om de monsters koel te houden;
 - van weefsels of organen in aparte verzegelde plastic recipiënten met een duidelijk etiket te vervoeren. Vervolgens moeten ze in grotere recipiënten worden geplaatst die voorzien zijn van voldoende absorberend materiaal om schade te voorkomen en eventueel weglekkend vocht op te nemen;
 - indien mogelijk, door een bevoegd persoon rechtstreeks naar het laboratorium te laten vervoeren om een snel en betrouwbaar transport te waarborgen.
2. Op de buitenzijde van de verpakking moet het adres van het ontvangende laboratorium zijn vermeld en op een in het oog vallende plaats moet de volgende vermelding zijn aangebracht:

„Dierlijk pathologisch materiaal; beperkt houdbaar; fragiel; niet openen buiten een AVP-laboratorium”.
3. De bevoegde persoon in het laboratorium dat de monsters ontvangt, moet op tijd in kennis worden gesteld van het tijdstip waarop de monsters aankomen.
4. Als de monsters via de lucht naar het communautaire referentielaboratorium voor AVP worden vervoerd ⁽¹⁾, moeten de verpakkingen voorzien zijn van een etikettering die aan de voorschriften van de IATA beantwoordt.

Hoofdstuk VI

Principes en gebruik van virologische tests en evaluatie van de resultaten

A. OPSPOREN VAN VIRUSANTIGEEN

1. Directe immunofluorescentietest (DIFT)

Het principe van de test is de microscopische opsporing van virale antigenen in afdruk-uitstrijkjes of dunne cryosecties van orgaanweefsel van varkens waarvan vermoed wordt dat ze met het AVP-virus zijn besmet. De intracellulaire antigenen worden opgespoord door middel van FIT ⁽²⁾-geconjugeerde specifieke antilichamen. In het cytoplasma van geïnfecteerde cellen verschijnen fluorescerende inclusielichamen of korrels.

Geschikte organen hiervoor zijn de nieren, de milt en verschillende lymfklieren. Bij wilde varkens mag, wanneer die organen niet beschikbaar zijn of autolyse hebben ondergaan, ook een uitstrijkje van beenmergcellen worden gebruikt.

De test kan in twee uur worden uitgevoerd. Omdat orgaanmonsters alleen uit dode dieren kunnen worden verkregen, is deze test slechts beperkt bruikbaar voor screeningonderzoek.

Deze test is zeer gevoelig voor acute AVP. Voor subacute of chronische vormen bedraagt de gevoeligheid van de DIFT slechts ongeveer 40 %, waarschijnlijk omdat er antigeen-antilichaamcomplexen worden gevormd die de reactie met het AVP-geconjugeerde antilichaam blokkeren. De betrouwbaarheid van het testresultaat kan door een twijfelachtige kleuring worden beperkt, vooral wanneer er nog geen gedegen ervaring is opgedaan met het uitvoeren van deze test of wanneer de te testen organen autolyse hebben ondergaan.

2. ELISA voor de opsporing van antigeen

Viraal antigeen kan ook worden opgespoord via ELISA-technieken, maar dit wordt alleen aanbevolen voor acute vormen van de ziekte, aangezien de gevoeligheid van deze technieken laag is wanneer zich antigeen-antilichaamcomplexen hebben gevormd. De gevoeligheid van de antigeen-ELISA moet hoog genoeg zijn voor het verkrijgen van een positief resultaat bij dieren met klinische symptomen van acute AVP. In elk geval wordt aanbevolen deze test alleen voor onderzoek van het volledige beslag te gebruiken, en wel samen met andere virologische tests.

⁽¹⁾ Het communautair referentielaboratorium beschikt over een open vergunning voor het ontvangen van diagnostische monsters en isolaten van het AVP-virus uit andere lidstaten. Als het monster van buiten de Europese Unie komt, kan worden geëist dat het referentielaboratorium vóór het vervoer een kopie van de invoervergunning overlegt, die vervolgens in een envelop aan de buitenzijde van de verpakking wordt bevestigd.

⁽²⁾ Fluoresceïne-isothiocynaat.

B. VIRUSISOLATIE EN IDENTIFICATIE VIA DE HEMADSORPTIETEST (HAD)

1. Bij virusisolatie wordt monstermateriaal geïnoculeerd op van varkens afkomstige gevoelige primaire celculturen, monocytoten of macrofaagcellen. Voor het isoleren van het AVP-virus wordt de voorkeur gegeven aan monsters van volbloed en leukocyten afkomstig van niet-gecoaguleerd bloed, of aan monsters van in deel A, punt 1, genoemde organen. Als het AVP-virus in het monster aanwezig is, zal het zich in de cellen vermeerderen en zal in de geïnfecteerde cellen een kenmerkend cytopathogeen effect ontstaan.
2. De HAD-techniek wordt voor de identificatie van isolaten van het AVP-virus aanbevolen omdat zij zeer gevoelig en specifiek is. Bij HAD wordt gebruikgemaakt van de capaciteit van het AVP-virus om zich in varkensmacrofagen te vermeerderen en om in aanwezigheid van varkenserythrocyten hemadsorptie op te wekken. Rond de geïnfecteerde macrofagen ontwikkelt zich een kenmerkende rozet van erythrocyten. Een klein aantal veldstammen van het AVP-virus kan evenwel geen hemadsorptie opwekken, maar veroorzaakt een cytopathogeen effect. Voor de specifieke identificatie van deze stammen kan gebruik worden gemaakt van de DIF-test, uitgevoerd op sedimenten van de celculturen, of van de polymerase-kettingreactie (PCR).
3. Virusisolatie is beter geschikt voor onderzoek van monsters van een klein aantal dieren dan voor grootschalig onderzoek. De virusislatieprocedure is arbeidsintensief en het duurt één tot drie dagen voordat de resultaten beschikbaar zijn. Mogelijk zijn er nog twee passages over de celcultuur nodig voordat in het monster een kleine hoeveelheid virus kan worden opgespoord. Daardoor kan het tot tien dagen duren voordat definitieve resultaten bekend zijn. Monsters die autolyse hebben ondergaan, kunnen cytotoxisch zijn voor de celcultuur en zijn bijgevolg slechts beperkt bruikbaar.
4. Virusisolatie en -identificatie door middel van HAD worden aanbevolen als referentietest voor de bevestiging van positieve resultaten van een eerdere ELISA, PCR of DIFT. Zij worden ook aanbevolen als AVP reeds door andere methoden is bevestigd, vooral bij een primaire uitbraak of een primair geval van AVP.

AVP-virussen die in varkensmacrofagen zijn geïsoleerd, kunnen worden gebruikt voor viruskarakterisering of in de moleculaire epidemiologie.

5. Alle AVP-virusisolaten van primaire uitbraken, van primaire gevallen bij wilde varkens of van gevallen in slachthuizen of vervoermiddelen moeten overeenkomstig deel E worden gekarakteriseerd door een nationaal referentielaboratorium in de lidstaat, door een ander laboratorium dat daartoe door de betrokken lidstaat bevoegd is verklaard, of door het communautair referentielaboratorium.

In elk geval moeten deze virusisolaten onverwijld aan het communautair referentielaboratorium worden toegezonden om aan de verzameling virussen te worden toegevoegd.

C. OPSPOREN VAN VIRUSGENOOM

1. De polymerase-kettingreactie (PCR) wordt toegepast om virusgenoom in bloed-, serum-, weefsel- of orgaanmonsters op te sporen. Kleine fragmenten viraal DNA worden door PCR vermeerderd zodat er opspoorbare hoeveelheden ontstaan. Met behulp van primers van een zeer goed geconserveerd gebied van het genoom kunnen tal van isolaten die tot alle bekende virusgenotypes behoren, met inbegrip van zowel niet-hemadsorberende virussen als isolaten met lage virulentie, worden opgespoord. Omdat deze test enkel een genoomvolgorde van het virus opspoort, kan de PCR ook positief zijn als er bij de virusisolatie geen besmettelijk virus is opgespoord (bijvoorbeeld in weefsel dat autolyse heeft ondergaan, monsters van herstellende varkens of monsters van varkens die genezen zijn en opnieuw klinisch normaal zijn).
2. PCR kan worden toegepast op beperkte hoeveelheden zorgvuldig gekozen monsters van verdachte dieren. Dit is de aanbevolen methode voor orgaanmonsters die cytotoxisch zijn, waardoor virusisolatie niet mogelijk is (bijvoorbeeld bij monsters van wilde varkens).
3. Geschikt monstermateriaal voor een PCR zijn de voor virusisolatie genoemde organen en serum. Ook teekhomogenaten kunnen met PCR worden geanalyseerd.
4. De PCR kan in één werkdag worden uitgevoerd. Hiervoor zijn geschikte laboratoriumapparatuur, gescheiden faciliteiten en ervaren personeel nodig. Een voordeel van deze methode is dat het besmettelijke virus in het laboratorium niet hoeft te worden vermeerderd. De PCR is uiterst gevoelig, maar de kans op verontreiniging, waardoor vals-positieve resultaten ontstaan, is zeer groot. Strenge kwaliteitscontroleprocedures zijn daarom essentieel.

D. AANBEVOLEN VIROLOGISCHE TESTS EN EVALUATIE VAN DE RESULTATEN

Virologische tests zijn essentieel voor de bevestiging van AVP.

Virusisolatie en HAD moeten worden overwogen als virologische referentietest en indien nodig moeten deze methoden als confirmatietest worden gebruikt. Zij worden met name aanbevolen wanneer de DIF- of PCR-resultaten positief zijn, maar geen klinische symptomen of laesies worden waargenomen, en in andere twijfelgevallen.

Een primaire uitbraak van AVP kan evenwel worden bevestigd als bij de betrokken varkens klinische symptomen of laesies zijn gevonden en ten minste twee afzonderlijke antigeen-, genoom- of antilichaamdetectietests positieve resultaten hebben opgeleverd voor monsters van hetzelfde verdachte varken.

Een secundaire uitbraak van AVP kan worden bevestigd als niet alleen een epizoötiologisch verband met een bevestigde uitbraak of een bevestigd geval is geconstateerd, maar bij de betrokken varkens bovendien klinische symptomen of laesies zijn gevonden en een antigeen-, genoom- of antilichaamdetectietest een positief resultaat heeft opgeleverd.

Een primair geval van AVP bij wilde varkens kan worden bevestigd door virusisolatie of wanneer ten minste twee antigeen-, genoom- of antilichaamdetectietests een positief resultaat hebben opgeleverd. Andere gevallen van AVP bij wilde varkens waarbij een epizoötiologisch verband met reeds bevestigde gevallen is geconstateerd, kunnen worden bevestigd als een antigeen-, genoom- of antilichaamdetectietest een positief resultaat heeft opgeleverd.

E. GENETISCHE KARAKTERISERING VAN ISOLATEN VAN HET AVP-VIRUS

1. Voor de genetische karakterisering van isolaten van het AVP-virus worden de restrictie-enzym patronen en de nucleotidensequenties van delen van het virusgenoom bepaald. Uit de overeenkomsten van deze restrictiepatronen of sequenties met die welke reeds bij eerdere virusisolaten zijn verkregen, kan blijken of ziekte-uitbraken zijn veroorzaakt door virussen die een Europees dan wel een Afrikaans moleculair model volgen.

Genetische karakterisering van isolaten van het AVP-virus is van groot belang om de huidige kennis van de moleculaire epidemiologie van AVP en van de genetische variatie van de virussen te verbeteren. De moleculaire gegevens maken het mogelijk nieuwe isolaten in klassen in te delen en verschaffen informatie over hun mogelijke herkomst.

2. Als de moleculaire viruskarakterisering niet op korte termijn kan worden uitgevoerd in een nationaal laboratorium of een ander laboratorium dat bevoegd is om AVP te diagnosticeren, moet het originele monster of het virusisolaat zo spoedig mogelijk naar het communautair referentielaboratorium worden gezonden voor moleculaire karakterisering.

De gegevens uit de restrictie-enzym analyse en de sequencing van AVP-virusisolaten waarover de laboratoria beschikken die bevoegd zijn om AVP te diagnosticeren, moeten worden doorgestuurd naar het communautair referentielaboratorium, zodat deze gegevens kunnen worden ingevoerd in de database die door dit laboratorium wordt beheerd.

De gegevens in deze database moeten beschikbaar zijn voor alle nationale referentielaboratoria in de lidstaten. Het communautair referentielaboratorium moet evenwel garanderen, indien het betrokken laboratorium hierom verzoekt, dat gegevens die bestemd zijn voor publicatie in een wetenschappelijk tijdschrift, in afwachting van de publicatie vertrouwelijk blijven.

Hoofdstuk VII

Principes en gebruik van serologische tests en evaluatie van de resultaten

A. BASISPRINCIPES EN DIAGNOSTISCHE WAARDE

1. Detectie van specifieke antilichamen tegen AVP wordt om verschillende redenen aanbevolen voor subacute en chronische vormen, voor grootschalig onderzoek en voor AVP-uitroeiprogramma's:
 - i) De besmette varkens maken snel antilichamen aan. Bij deze varkens kunnen antilichamen in serummonsters meestal worden opgespoord vanaf zeven tot tien dagen na de besmetting;
 - ii) er bestaan geen vaccins tegen AVP. Dit betekent dat specifieke antilichamen tegen AVP alleen worden aangemaakt als er een besmetting met het AVP-virus is, en
 - iii) de antilichamen blijven lang aanwezig. Bij varkens die van de ziekte zijn hersteld, kunnen nog maandenlang, of bij sommige dieren zelfs tot aan hun dood, grote hoeveelheden specifieke antilichamen worden gevonden.

Gedurende de eerste tien weken na de geboorte kunnen bij biggen specifieke antilichamen tegen AVP worden gedetecteerd die afkomstig zijn van het moederdier. De halveringstijd van maternale antilichamen in biggen bedraagt ongeveer drie weken. Antilichamen tegen AVP die worden aangetroffen bij biggen van meer dan drie maanden, zijn hoogstwaarschijnlijk niet van maternale oorsprong.

2. Het opsporen van antilichamen tegen het AVP-virus in serum of plasma-exsudaat van aangeboden organen wordt uitgevoerd ter ondersteuning van de diagnose van AVP op verdachte bedrijven, om in geval van een bevestigde uitbraak de dag van insleep van de besmetting vast te stellen, en voor toezichts- en bewakingsdoeleinden.

De locatie van seropositieve varkens in het bedrijf kan waardevolle informatie bieden over de wijze waarop en de plaats waar het AVP-virus het bedrijf is binnengekomen.

Om de resultaten van de serologische tests correct te kunnen evalueren, moet evenwel rekening worden gehouden met alle klinische, virologische en epizoötiologische bevindingen van het onderzoek dat overeenkomstig artikel 8 van Richtlijn 2002/60/EG moet worden uitgevoerd in verband met een vermoedelijke of een bevestigde uitbraak van AVP.

B. AANBEVOLEN SEROLOGISCHE TESTS

1. Voor de serologische bevestiging van AVP worden bij voorkeur de ELISA-test, de indirecte immunofluorescentietest (IIFT) of de immunoblottingtest (IB) gebruikt.

De kwaliteit en de doelmatigheid van de serologische diagnose die door de nationale laboratoria wordt uitgevoerd, moeten regelmatig worden gecontroleerd in het kader van de vergelijkende proeven die geregeld door het communautair referentielaboratorium worden georganiseerd en waaraan door verschillende laboratoria wordt meegewerkt.

2. Voor grootschalige serologische onderzoeken is de ELISA-test de meest betrouwbare en de meest bruikbare test. Bij deze test worden antilichamen tegen het AVP-virus die zich binden aan virale eiwitten die aan een vaste fase zijn gehecht, opgespoord door toevoeging van een conjugaat van A-eiwit met een enzym dat een zichtbare kleurreactie doet ontstaan wanneer het met een geschikt substraat reageert.
3. De nationale laboratoria moeten regelmatig kwaliteitscontroles met betrekking tot de gevoeligheid en de specificiteit van elke batch van ELISA-reagentia uitvoeren, waarbij ze gebruik moeten maken van het panel referentiesera dat door het communautair referentielaboratorium ter beschikking wordt gesteld. Dit panel bestaat uit:
 - sera van varkens in de vroege fase van besmetting met het AVP-virus (minder dan 17 dagen na besmetting);
 - sera van herstellende varkens (meer dan 17 dagen na besmetting).

De ELISA die voor de serologische diagnose van AVP moet worden gebruikt, moet alle referentiesera van de herstellende varkens opsporen. Alle resultaten die met de referentiesera worden verkregen, moeten kunnen worden overgedaan. Het verdient aanbeveling dat deze test ook alle positieve sera van de vroege fase opspoort. De resultaten die worden verkregen met de referentiesera van varkens in de vroege fase van de besmetting, geven een indicatie van de gevoeligheid van de ELISA.

4. De IIFT is een snelle techniek met hoge gevoeligheid en specificiteit die wordt gebruikt om antilichamen tegen AVP op te sporen in sera of weefsel-exsudaten. Bij deze test worden antilichamen tegen AVP opgespoord die zich binden aan een monolayer van met een aangepast AVP-virus besmette MS-cellen. De antilichaam-antigeenreactie wordt opgespoord via een gemerkt fluorescent A-eiwit. Positieve monsters vertonen specifieke fluorescentie bij de kern van de geïnfecteerde cellen.

Als DIFT en IIFT met elkaar worden gecombineerd om organen, bloed en exsudaten van dieren met klinische symptomen van AVP te testen, kan dit tot een snelle en betrouwbare bevestiging van de ziekte leiden.

5. De IB-test is een zeer specifieke en gevoelige techniek waarbij nitrocellulosestrips worden gebruikt die virale eiwitten als antigeen bevatten. De specifieke antilichaam-antigeenreactie wordt opgespoord door een A-eiwit-peroxidaseconjugaat en een geschikt substraat toe te voegen. Deze test is zeer nuttig om sera te testen waarvoor de ELISA-test geen uitsluitsel geeft.

Hoofdstuk VIII

Minimumvoorschriften inzake de veiligheid in AVP-laboratoria

1. In elk laboratorium waar het AVP-virus in celculturen moet worden vermeerderd, moet aan de in tabel 1 vastgestelde voorschriften worden voldaan. Postmortemonderzoeken, voorbereiding van weefsel ten behoeve van DIFT of PCR, en serologisch onderzoek met behulp van geïnactiveerd antigeen kunnen worden uitgevoerd bij een lager inperkingsniveau, voorzover aan de in tabel 1 vastgestelde minimumvoorschriften wordt voldaan, de basishygiëne gegarandeerd blijft en na de werkzaamheden wordt gedesinfecteerd, waarbij kadavers, weefsel en sera veilig worden afgevoerd.

2. De voorschriften die zijn vastgesteld in tabel 2, moeten worden nageleefd door elk laboratorium waar dieren met het AVP-virus worden geïnoculeerd.
3. Alle voorraden van het AVP-virus moeten te allen tijde veilig worden opgeslagen, hetzij bevroren, hetzij gevriesdroogd. Afzonderlijke ampullen moeten voorzien zijn van een duidelijk etiket en alle gegevens inzake virusvoorraden, alsmede de data en de resultaten van de kwaliteitscontroles moeten nauwkeurig worden geregistreerd. Ook moet worden bijgehouden welke virussen aan de voorraad worden toegevoegd, met gegevens over de herkomst, en welke virussen zijn toegezonden aan andere laboratoria.
4. Het wordt aanbevolen om naast de bioveilige unit voor werkzaamheden met betrekking tot het AVP-virus ook te beschikken over units waar geen manipulatie van dat virus plaatsvindt. Die andere ruimten zijn bestemd voor de preparatie van glaswerk en media, voor de instandhouding en preparatie van niet-besmette celculturen, voor de voorbereiding van sera, voor serologisch onderzoek (met uitzondering van methoden waarbij gebruik wordt gemaakt van het levende AVP-virus) en voor het verlenen van administratieve ondersteuning.

Tabel 1

Principes van biologische inperking voor diagnoselaboratoria

	Minimumvoorschriften	Aanvullende voorschriften
Algemene omgeving	Normale atmosferische druk. Speciale kamers, uitsluitend bestemd voor bepaalde procedures.	Normale atmosferische druk. Eén HEPA-filtratie van afgevoerde lucht. Speciale kamers, uitsluitend bestemd voor diagnostische procedures met betrekking tot klassieke varkenspest of AVP. Mogelijk verontreinigd effluent behandelen om het AVP-virus te inactiveren (chemische of hittebehandeling).
Laboratoriumkleding	Bovenkleding voor exclusief gebruik in de unit voor het AVP-virus. Wegwerphandschoenen voor alle manipulaties van besmet materiaal. Bovenkleding steriliseren voordat deze de unit verlaat, of op hoge temperatuur wassen binnen de unit.	Geheel omkleden bij binnenkomst. Laboratoriumkleding voor exclusief gebruik in de unit voor het AVP-virus. Wegwerphandschoenen voor alle manipulaties van besmet materiaal. Kleding steriliseren voordat deze de unit verlaat, of op hoge temperatuur wassen binnen de unit.
Personeel	Toegang tot unit beperken tot opgeleid en persoonlijk geautoriseerd personeel. Handen vóór verlaten van de unit wassen en desinfecteren. Personeel mag tot 48 uur na het verlaten van de unit geen bezoek brengen aan voorzieningen waar varkens aanwezig zijn.	Toegang tot unit beperken tot opgeleid en persoonlijk geautoriseerd personeel. Handen vóór verlaten van de unit wassen en desinfecteren. Personeel mag tot 48 uur na het verlaten van de unit geen bezoek brengen aan voorzieningen waar varkens aanwezig zijn.
Apparatuur	Biologische veiligheidskast (klasse I of II) voor alle manipulaties van levend virus. Kast met dubbele HEPA-filtratie van afgevoerde lucht. Alle benodigde apparatuur voor laboratoriumprocedures moet in de speciale laboratoriumruimte aanwezig zijn.	

Tabel 2

Voorschriften inzake bioveiligheid in ruimten met proefdieren

	Voorschriften
Algemene omgeving	Ventilatie met negatieve drukregeling. Eén HEPA-filtratie van afgevoerde lucht. Voorziening voor volledige decontaminatie/fumigatie aan het einde van de proef. Elk vast en vloeibaar effluent behandelen om het AVP-virus te inactiveren (chemische of hittebehandeling).

	Voorschriften
Laboratoriumkleding	Geheel omkleden bij binnenkomst. Kleding steriliseren voordat deze de unit verlaat, of op hoge temperatuur wassen binnen de unit.
Personeel	Toegang tot unit beperken tot opgeleid en persoonlijk geautoriseerd personeel. De kleding binnen laten vóór het douchen. Volledig douchen bij verlaten van unit. Personeel mag tot 48 uur na het verlaten van de unit geen bezoek brengen aan voorzieningen waar varkens aanwezig zijn.
Apparatuur	Alle benodigde apparatuur voor testprocedures met dieren moet in de unit aanwezig zijn. Alle materialen moeten bij het verlaten van de unit worden gesteriliseerd of, in het geval van diermonsters, dubbel verpakt worden in lekvrije recipiënten; bij vervoer naar het laboratorium voor AVP moeten deze recipiënten aan de buitenzijde worden gedesinfecteerd.
Dieren	Alle dieren moeten worden geslacht voordat ze de unit verlaten, postmortemonderzoeken moeten worden afgerond binnen het biologisch veilige gebied en kadavers moeten na afronding van het onderzoek worden verbrand.